OESTROGENEFFEKTE AUF DIE FETALE NEBENNIERENRINDENENTWICKLUNG DER RATTE

INAUGURALDISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Rolf Weigand

Saarbrücken

1972

Aus dem Pathologischen Institut der Universität des Saarlandes

Direktor: Prof. Dr. med. Georg Dhom

ÖSTROGENEFFEKTE AUF DIE FETALE NEBEN-NIERENRINDENENTWICKLUNG DER RATTE

I N A U G U R A L D I S S E R T A T I O N

zur Erlangung der Doktorwürde

der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

vorgelegt von

Rolf Weigand

geb. am 29. 1. 1947 in München

Dekan: Prof. Dr. med. H. Kulenkampff

Referent: Prof. Dr. med. H. Seeliger

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Promotion 16. 6. 1972.

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung	1
B. Material und Methode	2
I. Vorversuch	3
Ergebnisse des Vorversuches	5
II. Hauptversuch	5
III. Berechnungen (allgemeiner Teil)	6
a) Nebennieren- und Körpergewichte	7
b) Kernzählungen	9
c) Mitosen	10
C. Ergebnisse des Hauptversuchs	10
a) Körper- und Nebennierengewichte	10
1) Körpergewichte	14
2) Nebennieren	19
α) Nebennierengewichte	19
ß) Histologische Befunde	23
γ) Kernzählungen/konstante Fläche	25
δ) Mitosen/konstante Fläche	28
b) Hodengewichte	30
c) Gewichte der Ovarien	32
D. Diskussion	41
E. Zusammenfassung	52
F. Schrifttum	54
G. Danksagung	62
H. Lebenslauf	63

A. Einleitung:

Die vorliegende Studie ist Teil einer größeren Versuchsserie, in der die Faktoren der physiologischen Entwicklung der Rattennebennieren und besonders deren Beeinflußbarkeit durch Hormone untersucht werden (SEELIGER, Habilitationsschrift 1971; OTT, Inauguraldissertation Homburg 1971). Ausgangspunkt ist die Annahme, daß graviden Ratten zugeführte Hormone das fetale Endokrinium in seiner Entwicklung und Funktion beeinflussen. Dabei wird sowohl in die Entwicklung des einzelnen endokrinen Organs als auch in die erwachenden endokrinen Regelkreise eingegriffen.

Mit morphologischen Methoden (Gewicht, Kernzahl und Mitoserate pro konstante Fläche) und vergleichender histologischer Beobachtung sollen die qualitativen und quantitativen Veränderungen der Nebennierenentwicklung neugeborener Ratten nach Oestrogengaben an die Mütter zu unterschiedlichen Zeitpunkten der späten Gravidität erfaßt werden. Zu erwarten sind mit dieser Methodik Ergebnisse, die Einblick in die Entwicklungsmechanismen des Endokriniums und ihrer Steuerung geben. Diese "morphologische Basis" muß dann, wenn die Versuchsreihen abgeschlossen und überschaubar sind, mit den biochemischen Daten verglichen werden. Dann erst ist eine Übersicht über die Faktoren der Entwicklung des Endokriniums möglich.

Die Problematik ist äußerst komplex, da wir mit Hormongaben an die graviden Tiere nicht nur in deren Regelkreise, sondern gleichzeitig in die Entwicklung des Feten eingreifen. Mütterliches und fetales Endokrinium sind aber miteinander über die Plazenta verbunden, wobei die Plazenta eine eigene hormonale Aktivität hat.

Bisher sind nur wenige Ergebnisse einer Oestrogeneinwirkung auf Rattenfeten bekannt (EGUCHI et al. 1962, GOLDMAN 1968). Dies ist umso erstaunlicher, als zahlreiche Publikationen zur Einwirkung von Oestrogenen auf die Nebennieren der erwachsenen Ratten vorliegen (KORENCHEVSKY et al. 1935; ELLISON 1936; PINTO 1941; HESKETT et al. 1943; BRAND 1949; KNOBIL 1953; TUCHMANN-DUPLESSIS 1953; GLASSER et al. 1955; SELYE et al. 1955; VOGT 1955; AKASU 1956; VOGT 1957;GOMPERTZ 1958; MC KERNS et al. 1958; SUCHOWSKY 1958; CLAYTON 1959; BORGLIN 1961; KITAY 1963; PIROTH 1963; DOLCH 1965; MATAKAS 1965; CHOWERS et al. 1967; FONZO et al. 1967; SUVINA 1968; JUNGE-HÜLSING et al. 1969; WRENN et al. 1969; u. a.).

B. Material und Methode:

Tiermaterial: Weibliche Albinoratten, Stamm Wistar FW 49 / Biberach, Alter Ca. 8 Wochen, Gewicht ca. 260 g.

Haltung: Die Tiere wurden bei einer konstanten Temperatur von + 23° C in Vollmakrolon-Käfigen mit Altromin-Einstreu gehalten. Standart-Diät (Altromin B 0106) und Wasser

ad libitum. Die Tiere wurden im Alter von 7 Wochen zu je 3 Tieren in Käfigen untergebracht. Nach einwöchiger Zycluskontrolle wurden die Tiere im Oestrusstadium I für 24 Stunden mit männlichen Tieren des gleichen Stammes zusammengesetzt. Nach der Paarung wurde der Vaginalabstrich noch weitere 10 Tage kontrolliert, um festzustellen, ob eine Konzeption stattgefunden hatte. Der Tag nach der Paarungsnacht galt als der erste Schwangerschaftstag.

Versuchsanordnung:

I. Vorversuch:

17 weibliche Ratten wurden in vier Gruppen eingeteilt. Die Kontrollgruppe (= 3 Tiere) wurde vom 5. - 22. Schwangerschaftstag einmal täglich mit 0,55 ml Olivenöl / 100 g Körpergewicht i. m. behandelt. Die I. Gruppe (= 4 Tiere) erhielt vom 5. - 22. Schwangerschaftstag an täglich eine Injektion i. m., die aus einer Mischung von Olivenöl und Progynon B oleosum (Firma Schering)+ bestand (0,1 mg Progynon in 0,05 ml pro 100 g Körpergewicht bei Injektionsbeginn = Verdünnung Progynon / Olivenöl von 1 : 2,5).

Die Tiere der II. Gruppe wurden vom 10. - 22., die der III. Gruppe vom 15. - 22. Schwangerschaftstag mit der gleichen Dosis Progynon B oleosum behandelt wie die I. Gruppe.

+ Wir danken der Firma Schering für die freundliche Überlassung des Hormonpräparates.

Tab. 1 - Vorversuch

Muttertiere	Versuchsgruppe	Anzahl der lebenden Neugeborenen	R	+	♂	♀	NN der Mutter (mg) li.	NN der Mutter (mg) re.	Körpergew. der Mutter	Hypophysengew. der Mutter
M 1	K	-	5	7	8	4	51,00	44,55	376,5	15,00
M 2	K	4	-	-	2	2	55,20	50,45	425,5	16,00
M 3	I	-	x	-	-	-	38,90	36,70	311,5	26,00
M 4	I	-	x	-	-	-	41,55	38,90	297,5	22,60
M 5	I	-	x	-	-	-	26,50	24,00	263,0	18,00
M 6	I	-	x	-	-	-	44,92	37,68	315,5	23,35
M 7	II	-	x	-	-	-	36,50	36,15	355,5	12,05
M 8	II	-	x	-	-	-	25,10	22,10	274,5	8,37
M 9	II	-	x	-	-	-	33,90	29,70	291,9	18,00
M 10	III	-	4	-	-	-	45,00	40,40	323,5	14,25
M 11	III	-	10	-	-	-	59,16	60,41	-	11,80
M 12	III	-	13	-	-	-	51,30	51,60	354,5	21,80
M 13	III	11	-	-	7	4	37,80	34,70	-	15,20
M 14	III	-	1	-	-	-	55,70	52,00	403,5	21,40

R = Resorption der Feten; + = Intrauteriner Fruchttod; x = Anzahl nicht bestimmbar.

Ergebnisse des Vorversuchs (s. Tab. 1):

Nach Langzeitgaben von Oestradiolbenzoat zeigte es sich, daß in Gruppe I (17 Behandlungstage) und Gruppe II (12 Behandlungstage) sämtliche Feten resorbiert wurden und der Uterus mit klarer Flüssigkeit angefüllt war. Erst in Gruppe III (7 Behandlungstage) wurden die Feten nicht resorbiert.

Die Nebennierengewichte der Mutter sind im Vergleich mit der Kontrollgruppe in Gruppe I und II deutlich verringert und die Hypophysengewichte in Gruppe I im Vergleich zur Kontrollgruppe deutlich erhöht. Eine statistische Auswertung dieses geringen Materials ist nicht möglich.

II. Hauptversuch:

12 weibliche gravide Ratten wurden in 4 Gruppen eingeteilt (s. Tab. 4). Die Tiere der I. Gruppe erhielten vom 15. - 17. Tag der Schwangerschaft einmal täglich 1 mg Oestradiolbenzoat in 0,2 ml öliger Lösung pro 100 g Körpergewicht (Progynon ^{R} - Schering) i. m. Die Tiere der II. Gruppe wurden mit der gleichen Dosis vom 17. - 19. Tag, die Tiere der III. Gruppe vom 19. - 21. Schwangerschaftstag behandelt. Die Tiere der Kontrollgruppe erhielten vom 15. - 17. Tag einmal täglich 0,2 ml physiologische Kochsalzlösung i. m. Falls die Geburt

nicht bis zum 23. Tag p. c. erfolgte, wurden die Feten durch Sectio gewonnen. Die Neugeborenen wurden gewogen, durch Äther getötet und das Geschlecht auf Grund des Ano-Genitalabstandes bestimmt. Die Nebennieren wurden präpariert, gewogen und nach zweistündiger Bouin-Fixation in Paraffin eingebettet. Die histologischen Schnitte von 3 - 4 µ Dicke wurden mit HE und Goldner gefärbt.

Zur quantitativen Analyse der Nebennierenveränderungen wurden als Ausdruck der Zellgröße die Anzahl der Kerne pro konstante Fläche in der Zona glomerulosa und fasciculata bestimmt. Dazu wurden Goldner-gefärbte histologische Präparate photographiert und bei einer 800-fachen Endvergrößerung im Stichprobenverfahren in 10 Feldern von 18 cm^2 (Schablone 3 x 6 cm) die Anzahl der Kerne in diesen Flächen bestimmt. Die Mitosen in den beiden Rindenzonen der Nebennieren wurden mikroskopisch in 100 konstanten Feldern (Raster eines Meßokulars) ausgezählt.

III. Berechnungen (allgemeiner Teil):

Im folgenden werden die Methoden der biometrischen Analysen dargelegt.

a) Für das Körper- und Nebennierengewicht ist der Versuchsfehler nach folgendem Schema einer Varianzanalyse ermittelt worden:

Tab. 2

Variationsursache		Freiheitsgrade	Summe der Abweichungsquadrate	Durchschnittsquadrat = Varianz
	Symbole	FG	SQ	$SQ/FG = s^2$
Gesamt	T	n-1	SQ_T	
zwischen Muttertieren innerhalb Behandlungen und Geschlecht	M			
M_4, M_5 (♀)	M'	1	$SQ_{M'}$	
übrige Muttertiere (♂, ♀)	M''	$2\sum(p-1)=m$	$SQ_{M''}$	
Neugeborene M_4, M_5/übrige	C	1	SQ_C	
Fragestellung	G			
Behandlung	B	3		
Geschlecht	S	1	SQ_G	
Wechselwirkung	BS	3		
Versuchsfehler	R	V_R	SQ_R	$s_R^2=SQ_R/V_R$

Bemerkungen: $V_R = (n-1) - (m+9)$

$SQ_R = SQ_T-(SQ_{M'}+SQ_M + SQ_C + SQ_G)$

n = Anzahl der Einzelwerte (Neugeborene)

p = Anzahl der Muttertiere innerhalb Behandlungsgruppe

Da, wie aus den Tabellen der Mittelwerte hervorgeht, die Anzahl der Einzelwerte in den Zwei-Wege-Tafeln "Behandlung x Geschlecht" ungleich ist, ist eine orthogonale Zerlegung der 7 Freiheitsgrade (s. Schema der Varianzanalyse) nicht möglich. Für die Untersuchung der Wechselwirkung"Behandlung x Geschlecht" wurde deshalb das bei SNEDECOR u. COCHRAN (1967) beschriebene Verfahren verwandt (l. c. S. 484 ff.). Die Wechselwirkung errechnet sich danach als:

$$SQ\ (WW) = \sum_j W_j D_j^2 - \left(\sum_j W_j D_j \right)^2 \sum_j W_j$$

mit $D_j = \bar{x}_{1j} - \bar{x}_{2j}$

und $W_j = \frac{n_{1j}\, n_{2j}}{n_{1j} + n_{2j}}$

1,2, = Index Geschlecht (Zeilen)

jl,.. 4 = Index Behandlung (Spalten)

Für die Gonaden sind entsprechende Hinweise im Ergebnisteil, da es sich nur um eine einfache hierarchische Varianzanalyse handelt. Für mehrfache Mittelwertsvergleiche wurde jeweils der Duncan-Test herangezogen (WEBER 1967, S. 252, 257).

Für die Kennzeichnung der Signifikanzen sind jeweils folgende Symbole verwandt worden:

Überschreitungswahrscheinlichkeit:	Symbol:
> 5 %	o
5 % - 1 %	+
1 % - 0,1 %	++
< 0,1 %	+++

b) Kernzählungen der Nebennierenrinde pro konstante Flächeneinheit

Die Varianzanalyse wurde in analoger Weise wie bei Körper- und Nebennierengewicht vorgenommen. Der Variationsursache "zwischen den Muttertieren" entspricht hier die Summe der Abweichungsquadrate mit 8 x 2 = 16 Freiheitsgraden für die 3 ausgewerteten Schnittpräparate innerhalb Zone und Behandlung. Für die Fragestellung liegen wieder 7 Freiheitsgrade vor, wobei hier formal der Faktor Geschlecht durch den Begriff Innenzone (= äußere Fasciculata) und Außenzone (= Glomerulosa) ersetzt ist.

c) Auswertung der Mitosezählungen der Nebennierenrinde pro konstante Flächeneinheit.

Aus den Zählungen werden gruppierte Stichproben mit den Klassen 0, 1, 2, 3 und 4 gebildet (eine Rate von mehr als 3 Mitosen wurde in einem Raster nicht beobachtet) und über den Dispersionsindex

$$= \frac{(\bar{x}_j - \bar{X})^2}{x} \quad ; \text{ Freiheitsgrade} = n-1$$

(SACHS, 1968, S. 190 ff.)

auf eine Übereinstimmung mit einer Poisson-Verteilung geprüft. Eine Poisson-Verteilung ist immer dann zu vermuten, wenn die Ereigniswahrscheinlichkeit, in unserem Fall die Mitoserate, kleiner als 1 % und die Bedingung Mittelwert = Varianz erfüllt ist.

C) Ergebnisse:

a) Körper- und Nebennierengewichte:

Durch Progynongaben in der Gravidität wurde bei den Muttertieren eine eindeutige Hyperplasie der Nebennieren erzeugt (s. Tab. 4). In den Gruppen I und II kam es nicht zu spontanen Geburten, so daß die Feten durch Sectio gewonnen werden mußten. In der Kontrollgruppe und der Gruppe III verliefen die Geburten dagegen unauffällig. Wie der Tab. 4 zu entnehmen ist,

war die Anzahl der Feten in der Gruppe I und II vermindert. Hier wurden auch vermehrt tote Feten und Resorptionen nachgewiesen. Biometrisch ausgewertet wurden nur die lebenden Neugeborenen.

Gegenüber der Kontrollgruppe wurde als Folge der Progynon-Behandlung in allen behandelten Gruppen eine Minderung des Körpergewichts der Neugeborenen gefunden. Geschlechtsunterschiede fanden sich in der Kontrollgruppe und der Gruppe III (s. Abb. 1). Eine Minderung des Nebennierengewichts der Neugeborenen wurde bei den Männchen und Weibchen der Gruppe II und den Weibchen der Gruppe III gegenüber den Kontrollgruppen nachgewiesen. Hochsignifikante Geschlechtsunterschiede ergaben sich in Gruppe III, wobei die Nebennierengewichte der Männchen über denen der Weibchen lagen (s. Abb. 2). Die relativen Nebennierengewichte in % des Körpergewichts lagen dagegen in der Behandlungsgruppe I deutlich über den übrigen Gruppen (s. Abb. 3).

Im einzelnen ergaben die Berechnungen: (Tab. 3 - 21)

Tab. 3

Gruppe	Anzahl der neugeborenen ♂	♀	ges.	Körpergewicht (g) ♂	♀	ges.	Nebennierengewicht (mg) ♂	♀	ges.	Gonaden (mg) ♂	♀
Kontrolle	12	19	31	6,1	5,6	5,8	2,74	2,73	2,73	3,73	1,62
I. 15.-17.Tag	5	11	16	4,4	4,1	4,2	2,67	2,42	2,50	3,44	1,81
II.17.-19.Tag	14	6	20	3,1	3,5	3,3	1,53	1,80	1,61	2,05	1,74
III.19.-21.Tag	23	25	48	5,0	4,8	4,9	2,50	2,26	2,37	3,03	2,01

Tab. 4

Muttertier	Versuchsgruppe	Anzahl der Neugeborenen (lebend)	R	+	♂	♀	Nebennieren der Mutter (mg) links	rechts	Körpergewicht der Mutter (g)	Wurfgewicht (g)
M 1	K	15	-	-	6	9	44,75	43,15	368,0	88,2
M 2	K	16	-	-	6	10	48,00	41,55	346,5	92,3
M 3	I	11	-	2	5	6	60,90	60,95	329,0	47,2
M 4	I	-	x	-	-	-	57,30	51,40	273,0	-
M 5	I	3	x	-	-	3	44,50	39,00	340,0	13,9
M 6	I	2	x	-	-	2	54,65	51,90	354,5	6,8
M 7	II	10	-	3	6	4	140,00	124,00	359,5	38,8
M 8	II	10	-	5	8	2	72,00	70,00	375,5	29,6
M 9	III	14	-	-	6	8	62,00	58,30	312,5	56,8
M 10	III	12	-	-	4	8	84,30	75,50	211,0	58,4
M 11	III	11	-	-	5	6	54,50	48,50	345,0	54,9
M 12	III	11	-	-	8	3	51,80	45,00	361,0	56,4

Erläuterungen:

R = Vollständig oder teilweise resorbierte Feten im Uterus; + Anzahl nicht bestimmt.

K = Kontrolle; I = Behandlg. 15.-17., II = 17.-19., III = 19.-21. Tag der Gravidität.

+ = Anzahl der toten Feten ohne Zeichen von Resorption.

1. Körpergewicht

Da die Muttertiere M_5 und M_6 nur 2 bzw. 3 weibliche und keine männlichen Nachkommen hatten und bei diesen beiden Muttertieren vermehrt Resorptionen beobachtet wurden (s. Tab. 4), wurden diese Neugeborenen nicht in die Berechnungen einbezogen.

Tab. 5

Mittelwertstabelle der Körpergewichte (s. Abb. 1)

(in g)

	Kontrolle	I	II	III
♂	12+ 5,150	5 4,440	14 3,357	23 5,152
♀	19 5,316	6 4,137	6 3,567	25 4,800

+n = Anzahl der Neugeborenen / Gruppe

Tab. 6

Varianzanalyse

Variationsursache	Symbole	FG	SQ	s^2
Gesamt	T	114	100,2487	
Zwischen Muttertieren innerhalb Behandlungen und Geschlecht	M			
M_5, M_6 (♀)	M'	1	1,8253	
übrige Muttertiere (♂, ♀)	M''	10	6,2211	
Neugeborene M_5, M_6/übrige	C	1	2,4793	
Fragestellung	G	7	78,2984	
Versuchsfehler	R	95	11,4246	0,12026 = s_R^2

Die Varianzanalyse ergibt einen Versuchsfehler von s_R^2 = 0,102026 bei 95 Freiheitsgraden. Für die Fragestellung ist die Aufgliederung der Wechselwirkung "Behandlung x Geschlecht" von Bedeutung (KOSSWIG 1970).

Tab. 7

Aufgliederung der Wechselwirkung "Behandlung x Geschlecht"

Variationsursache	FG	SQ	s^2	F
Gesamt	3	1,5277	0,5092	$4,23^{++}$
Kontr./Progynon	1	1,6936	1,6936	$14,08^{+++}$
Gruppe I/II	1	0,3855	0,3855	$3,21^{o}$
Gruppe I, II/III	1	1,5158	1,5158	$12,60^{+++}$

Die gesamte Wechselwirkung mit 3 Freiheitsgraden ist für die Überschreitungswahrscheinlichkeit von 1 % signifikant. Bei der Aufgliederung der Freiheitsgrade entsprechend der Fragestellung ergeben sich hoch gesicherte Wechselwirkungen zwischen Kontrolle und Progynon-Behandlung sowie zwischen den Gruppen I und II gegenüber der Gruppe III. Dies besagt für die Progynon-Behandlungen, daß sich diese auf die männlichen und weiblichen Neugeborenen bei Applikation vom 15. - 17. Tag (I) und vom 17. - 19. Tag (II) in gleicher Weise und bei Behandlung vom 19. - 21. Tag (III) der Gravidität im Vergleich zu den Gruppen I und II in unterschiedlicher Weise ausgewirkt haben; mit anderen Worten: die Differenzen zwischen den männlichen und weiblichen Neugeborenen sind zu den Zeiten der Behandlungen I und II gleich, womit jedoch noch nichts über die Signifikanz dieser Differenz ausgesagt ist.

Der hoch signifikante Freiheitsgrad für den Vergleich der Gruppen I und II mit der Gruppe III ist analog als unterschiedliche Reaktion der männlichen und weiblichen Neugeborenen auf die Progynon-Behandlung der Gruppe III zu interpretieren. Damit ist ein Vergleich der Faktoren (Behandlung, Geschlecht) nach ihren Zeilen und Spaltenmitteln (Zwei-Wege-Tafel) nicht möglich, weshalb in der Tabelle der Mittelwerte auf diese Angaben verzichtet wurde. Für die Beurteilung des Einflusses der Progynon-Behandlungen auf das Körpergewicht der Neugeborenen und zum Vergleich mit den Kontrollgruppen wurden deshalb die 28 möglichen Vergleiche zwischen den 8 Mittelwerten der Tab. 5 über den Duncan-Test vorgenommen.

Aus dem Duncan-Test geht hervor, daß in den Versuchsgruppen I und II keine Geschlechtsunterschiede, dagegen in der Gruppe III und in der Kontrollgruppe hoch gesicherte Geschlechtsunterschiede bestehen. Hoch signifikant verschieden sind auch die Körpergewichte der behandelten Männchen gegenüber der Kontrollgruppe und untereinander. Das gleiche gilt auch für die Weibchen (s. Abb. 1).

Tab. 8: Duncan-Test (Körpergewicht)

	14 ♂ II	6 ♀ II	6 ♀ I	5 ♂ I	25 ♀ III	23 ♂ III	19 ♀ K	12 ♂ K
	3,357143	3,566667	4,166667	4,440000	4,800000	5,152174	5,615789	6,150000
♂ II	-	0,209524^{o}	0,809524	1,082857^{+++}	1,442857^{+++}	1,795031^{+++}	2,258646^{+++}	2,792857^{+++}
♀ II		-	0,600000^{++}	0,873333	1,233333^{+++}	1,585507^{+++}	2,049122^{+++}	2,583333^{+++}
♀ I			-	0,273333^{o}	0,633333^{+++}	0,985507^{+++}	1,449122^{+++}	1,983333^{+++}
♂ I				-	0,360000^{o}	0,712174^{+++}	1,175789^{+++}	1,710000^{+++}
♀ III					-	0,352174^{+++}	0,815789^{+++}	1,350000^{+++}
♂ III						-	0,463615^{+++}	0,997826^{+++}
♀ K							-	0,534211^{+++}
♂ K								-

2. Nebennieren

α) Nebennierengewichte

Mit der gleichen Begründung wie beim Körpergewicht wurden die Nachkommen der Muttertiere M_5 und M_3 nicht in die Berechnungen einbezogen.

Tab. 9 der Mittelwerte der Nebennierengewichte in mg (s. Abb. 2)

	Kontrolle	I	II	III
♂	12[+] 2,742	5 2,570	14 1,536	23 2,502
♀	19 2,737	6 2,750	6 1,808	25 2,23

[+]n = Anzahl der Neugeborenen/Gruppe

Tab. 10

Varianzanalyse

Variationsursache		Freiheitsgrade		Summe d. Abweichungsquadrate	Durchschnittsquadrat=Varianz
	Symbole	FG		SQ	SQ/FG = s^2
Gesamt	T	114		38,2679	
zw. Muttertieren innerh. Behandlg. u. Geschlecht	M				
M_4, M_5 (♀)	M'	1		0,0163	
übrige Muttert.	M''	10		3,9661	
Neugeborene M_5, M_6/übrige	C	1		0,5663	
Fragestellung	G				
Behandlung	B	3	7	17,8707	
Geschlecht	S	1			
Wechselwirkung	BS	3			
Versuchsfehler	R	95		15,8485	0,16683

Die Varianzanalyse ergibt einen Versuchsfehler von s_R^2 = 0,16683 bei 95 Freiheitsgraden. Für die Fragestellung ist die Aufgliederung der Wechselwirkung "Behandlung x Geschlecht" von Bedeutung.

Tab. 11

Aufgliederung der Wechselwirkung "Behandlung x Geschlecht"

Variationsursache	FG	SQ	s^2	F
Gesamt	3	0,9381	0,3127	1,87°
Kontr./Progynon	1	0,0025	0,0025	1 °
Gruppe I/II	1	0,0163	0,0163	1 °
Gruppe I,II/III	1	2,1513	2,1513	12,90+++

Die biometrische Analyse der beobachteten Nebennierengewichte ergibt als wesentliches Resultat, daß die Neugeborenen unabhängig von Geschlecht bei den Gruppen I und II gleichartig und in der Gruppe III bezüglich der Geschlechter unterschiedlich mit einer Minderung der Nebennierengewichte auf die Progynon-Behandlung reagieren. Die Wechselwirkung"Geschlecht x Behandlung" der Gruppen I, II/III ist hoch signifikant. Die Vergleiche sind deshalb wieder wie beim Körpergewicht mit dem Duncan-Test vorgenommen worden.

Tab. 12: Duncan-Test (Nebennierengewicht)

	14 ♂ II	6 ♀ II	25 ♀ III	23 ♂ III	5 ♂ I	19 ♀ K	12 ♂ K	6 ♀ I
	1,535714	1,808333	2,260000	2,502174	2,670000	2,736842	2,741667	2,750000
♂ II	-	0,272610°	0,724286+++	0,966460+++	1,134286+++	1,201128+++	1,205953+++	1,214286+++
♀ II		-	0,451667+	0,693841	0,861667	0,928509+++	0,933334+++	0,941667+++
♀ III			-	0,242174+	0,410000	0,476842+++	0,481667+++	0,490000+++
♂ III				-	0,167826	0,234668	0,239493°	0,247826
♂ I					-	0,066842	0,071667°	0,080000°
♀ K						-	0,004825°	0,013158°
♂ K							-	0,008333°
♀ I								-

Der Duncan-Test (Tab. 12) ergibt, daß das Nebennierengewicht der männlichen und weiblichen Neugeborenen der Gruppe I und II und der weiblichen Neugeborenen der Gruppe III hoch signifikant niedriger sind als die der jeweiligen Kontrollen. Es bestehen keine Geschlechtsunterschiede der Nebennierengewichte der Kontrolle und in den Gruppen I und II. Dagegen finden sich hoch signifikante Geschlechtsunterschiede in den Gruppen III, wobei das Nebennierengewicht der Männchen deutlich über dem der Weibchen liegt. Hervorzuheben ist aus dem Vergleich der Gruppen untereinander, daß kein Unterschied zwischen den Männchen der Gruppen I und III besteht, dagegen ein hoch signifikanter Unterschied bei den Weibchen dieser Gruppen, wobei die Nebennierengewichte der Gruppe I über denen der Gruppe III liegen (s. dazu Abb. 2).

ß) Histologische Befunde an den Nebennieren

Muttertiere:

Glomerulosa und Fasciculata zeigen in den mit Oestrogen behandelten Gruppen morphologisch und in ihrem Lipoidgehalt keine Unterschiede gegenüber den Kontrollen. In der Reticularis fallen in den behandelten Gruppen dagegen herdförmige Anschwellungen des Cytoplasmas mit eigentümlicher milchglasartiger Trübung auf, besonders deutlich in Gruppe III (Behandlung vom 19. - 21. Tag der Gravidität mit Oestradiolbenzoat).

Neugeborene:

Grundsätzlich zeigen die Nebennierenrinden der behandelten Gruppen einen gleichen Aufbau wie die Kontrollen. Glomerulosa und Fasciculata sind noch wenig geordnet. Die Grenze ist unscharf. Die äußere kerndichte Schicht, die der Zona glomerulosa entspricht, weist mehr Mitosen auf als die innere aufgelockerte, der Zona fasciculata entsprechende Schicht. Reichlich Blutbildungsherde mit Megakaryozyten sind vorhanden. Die Markballen liegen wenig geordnet zwischen den inneren Rindenschichten.

Bei ausgedehnter Suche und beim Vergleich von etwa 300 Photographien beobachtet man jedoch immer wieder in der oberen Fasciculata, zu den tieferen Schichten hin abnehmend, in den mit Progynon behandelten Gruppen - besonders in der Gruppe II - eine deutliche Anschwellung des Zytoplasmas mit teils homogener, teils feingranulärer oder auch feinwabiger Zeichnung. Dabei tritt die Zellmembran zum Teil deutlich hervor, überwiegend ist sie jedoch verwaschen (s. Abb. 6). Geschlechtsunterschiede der Rindenstruktur oder der Rindenzellen der Nebenniere konnten weder bei der Kontrollgruppe noch in den behandelten Gruppen, auch nicht in Gruppe III, die ja signifikante Gewichtsunterschiede der Nebennieren zwischen den Geschlechtern (s. Abb. 2) zeigte, nachgewiesen werden.

γ) Kernzählungen der Nebennierenrinde bei den neugeborenen Ratten:

Aus den Kernzählungen geht hervor, daß die Zona glomerulosa hoch signifikant zellreicher ist als die Zona fasciculata. Nur in der mit Progynon behandelten Gruppe II ist eine signifikante Minderung der Kernzahl pro Fläche in der Fasciculata gegenüber den anderen Gruppen zu beobachten (s. Abb. 5). Die in den histologischen Präparaten auch der Gruppen I und III zu beobachtende Anschwellung des Zelleibes ist also quantitativ nicht faßbar, da sie nur herdförmig auftritt.

Die in 10 Rastern in der Zona glomerulosa (G) und der Zona fasciculata (F) an Photogrammen verschiedener Schnittpräparate jeder Gruppe ermittelten Kerne ergeben folgende Summen (Tab. 13).

Tab. 13

Summentafel der Kernzählungen

	Kontrolle	I	II	III
G	173	165	148	179
F	130	135	99	135

Tab. 14

Varianzanalyse der Kernzählungen

Variations-ursache	Symbole	Freiheits-grade	Summe der Abweichungs-quadrate	Varianz
Gesamt	T	79	1191,8875	
Zellarten	A	1	348,6125	348,6125
Behandlung	B	3	138,9375	46,3125
Wechselwirkung Zellarten x Behandlung	AB	3	10,6375	3,5458
Versuchsfehler	R	72	693,7000	9,6347

Aus der Varianzanalyse ergibt sich ein gesicherter Unterschied zwischen den Zellarten Glomerulosa und Fasciculata ($F = 36,183^{+++}$; $F_{0,001} = 11,972$) und innerhalb der Behandlungsgruppen ($F = 4,807^{++}$; $F_{0,01} = 3,949$). Berechnet man die Varianzanalysen neu, indem man für die beiden Zellarten (G, F) eine einfache hierarchische Klassifikation durchführt, dann ergibt sich für die Fasciculata ein gesicherter Unterschied zwischen den Behandlungsgruppen ($F = 4,289^{+}$; $F_{0,05} = 2,922$). Dagegen läßt die Aufgliederung für die Glomerulosa keinen Einfluß der Behandlung erkennen ($F = 1,525$; $F_{0,05} = 2,922$).

Duncan-Test Kernzählungen

Tab. 15

Glomerulosa

	II 14,8	I 15,5	K 17,3	III 17,9
II	-	1,7°	2,5°	3,1°
I		-	0,8°	1,4°
K			-	0,6°
III				-

Tab. 16

Fasciculata

	II 9,8	K 13,0	I 13,5	III 13,5
II	-	3,2+	3,7++	3,7++
K		-	0,5°	0,5°
I			-	0,0°
III				-

Aus den Duncan-Tesen der Kernzählungen geht hervor, daß die Progynon-Behandlung in der Glomerulosa keine

statistisch abzusichernden Schwankungen der Kernzahl / Fläche bewirkt hat. Dagegen ist in der Gruppe II die Kernzahl pro Fläche in der Fasciculata gegenüber den übrigen Gruppen signifikant vermindert ($p = < 5\ \%$).

δ) Mitosen der Nebennierenrinde bei den neugeborenen Ratten:

Die Ergebnisse der Mitosezählungen in je 100 Rastern der Zona glomerulosa (G) und der fasciculata (F) pro Gruppe sind in Tab. 17 und Abb. 6 wiedergegeben. Die gefundenen Werte folgen einer Poisson-Verteilung. Eine Poisson-Verteilung ist immer dann zu vermuten, wenn die Ereigniswahrscheinlichkeit - in unserem Fall das Auftreten von Mitosen - kleiner ist als 1 % und die Bedingung Mittelwert = Varianz erfüllt ist. Aus den Zählungen geht hervor, daß in der Glomerulosa in den mit Progynon behandelten Gruppen die Mitoserate gegenüber der Kontrolle deutlich vermindert ist. Dagegen bleibt die Mitoserate in der äußeren Fasciculata, die schon normalerweise gegenüber der Glomerulosa vermindert ist, in allen Gruppen gleich.

Tab. 17: Mitosen (Ergebnisse) - (s. Abb. 6)

		0	1	2	3	4	$\bar{x}$	s^2	χ^2
K_G	beobachtet	64	25	10	1	0	0,48	0,515	105,2
	berechnet	61,87	29,70	7,13	1,14	0,14			
K_F	beobachtet	89	10	1	0	0	0,12	0,127	104,7
	berechnet	88,39	10,64	0,64	0,03	<0,01			
I_G	beobachtet	72	24	4	0	0	0,32	0,301	93,0
	berechnet	72,61	23,24	3,72	0,40	0,03			
I_F	beobachtet	87	11	2	0	0	0,15	0,169	111,7
	berechnet	86,07	12,91	0,97	0,05	<0,01			
II_G	beobachtet	74	22	4	0	0	0,30	0,293	96,7
	berechnet	74,08	22,22	3,33	0,33	0,03			
II_F	beobachtet	81	17	2	0	0	0,21	0,208	98,0
	berechnet	81,05	17,02	1,79	0,13	<0,01			
III_G	beobachtet	73	25	2	0	0	0,29	0,248	84,8
	berechnet	74,83	21,70	3,15	0,30	0,02			
III_F	beobachtet	86	14	0	0	0	0,14	0,122	85,0
	berechnet	86,94	12,17	0,85	0,04	<0,01			

b) Die Hodengewichte:

Die männlichen Neugeborenen sind Nachkommen von 9 Muttertieren. Die Inhomogenität der Varianzen innerhalb der einzelnen Muttertiere (χ^2 = 24,00; Tabellenwert 5 % = 15,51) läßt sich durch eine log Transformation der Daten beseitigen (χ^2 = 13,88). Die Berechnung des Versuchsfehlers (44 Freiheitsgrade) mit der Variablen $x = 10^2$ log Gonadengewicht ist in der Varianzanalyse der Tabelle 18 aufgeführt.

Tab. 18

Varianzanalyse

Variationsursache		Freiheitsgrade	Summe d. Abweichungsquadrate	Durchschnittsquadrat=Varianz
	Symbole	FG	SQ	SQ/FG = s^2
Gesamt	T	52	6736,22	
zwischen Muttertieren		5	857,13	
Behandlung		3	4499,04	
Versuchsfehler	R	44	1410,05	32,047 = s_R^2

Tab. 19

Mittelwerte der ♂ Gonadengewichte (10^2 log)

(s. Abb. 7)

Kontrolle	I	II	III
12 + 56,65	5 53,50	13 31,40	23 48,01

+n = Anzahl der Neugeborenen / Gruppe

Da für die Fragestellung des Versuchs der Vergleich aller Mittelwerte miteinander von Bedeutung ist, wurde wiederum der Duncan-Test herangezogen.

Tab. 20

Duncan-Test (Hodengewichte)

	II	III	I	K
	13 31,40	23 48,01	5 53,50	12 56,65
II	-	16,61^{+++}	22,10^{+++}	25,25^{+++}
III		-	5,49^{o}	8,64^{+++}
I			-	3,15^{o}
K				-

Aus dem Duncan-Test der Gonadengewichte geht hervor, daß die Hodengewichte der Gruppen I und III und der Kontrollgruppe hoch signifikant schwerer sind als die der II. Gruppe. Die Gewichte der III. Gruppe sind hoch signifikant leichter als die der Kontrolle. Es bestehen keine signifikanten Unterschiede der Hodengewichte der Gruppe I zu denen der Kontrollgruppe.

c) Die Gewichte der Ovarien:

Bei den weiblichen Neugeborenen waren innerhalb der 11 Muttertiere die Varianzen so divergent, daß sich durch keine Transformation eine Homogenität der Varianzen herbeiführen ließ. So blieb nur die Möglichkeit, die 4 Gruppen (K, I, II, III) mit einem parameterfreien Test zu vergleichen. Es wurde hierfür der "H-Test" von KRUSKAL und WALLIS (1962) gewählt. Das hiernach errechnete χ^2 = 6,995 mit 3 Freiheitsgraden liegt zwischen den Überschreitungswahrscheinlichkeiten von 10 und 5 %. Dieses Ergebnis ist so zu deuten, daß in diesem Versuch ein Einfluß auf die weiblichen Gonaden nicht nachweisbar ist.

Tab. 21: Mittelwerte der ♀ Gonadengewichte

Kontrolle	I	II	III
19 [+] 20,22	9 28,23	6 21,55	25 28,97

[+]n = Anzahl der Neugeborenen / Gruppe

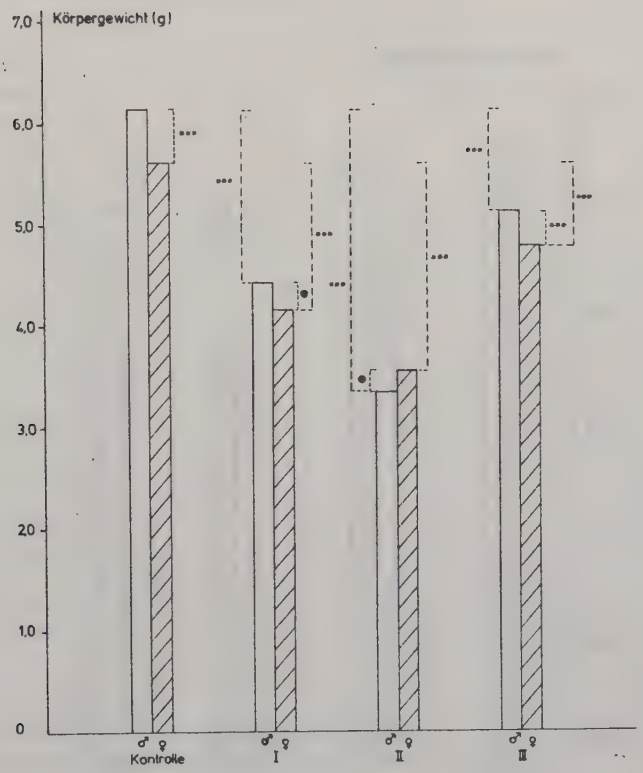

Abb. 1: Körpergewicht der Neugeborenen nach Oestrogen-Behandlung der Mütter in der Gravidität.

I = Behandlung 15. - 17. Tag der Gravidität
II = Behandlung 17. - 19. Tag der Gravidität
III = Behandlung 19. - 21. Tag der Gravidität

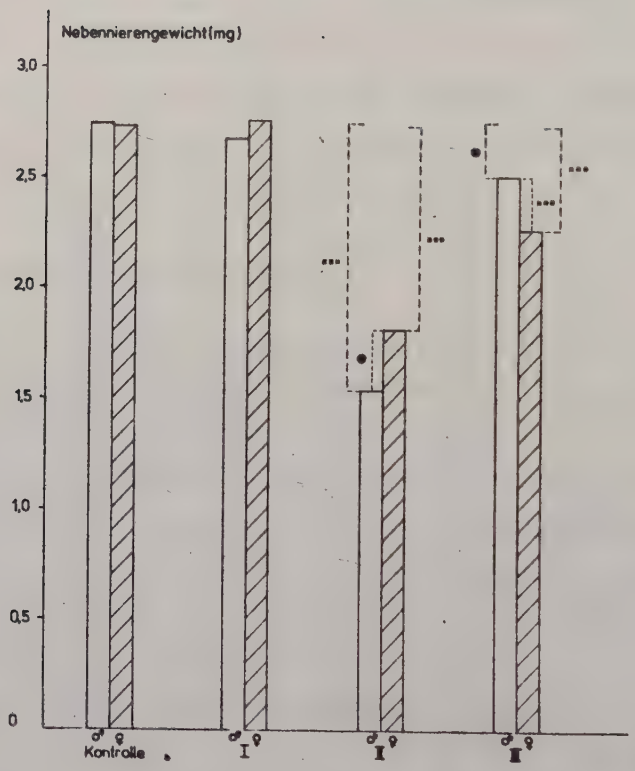

Abb. 2: Nebennierengewicht der Neugeborenen nach Oestrogen-Behandlung der Mütter in der Gravidität.

I = Behandlung 15. - 17. Tag der Gravidität
II = Behandlung 17. - 19. Tag der Gravidität
III = Behandlung 19. - 21. Tag der Gravidität

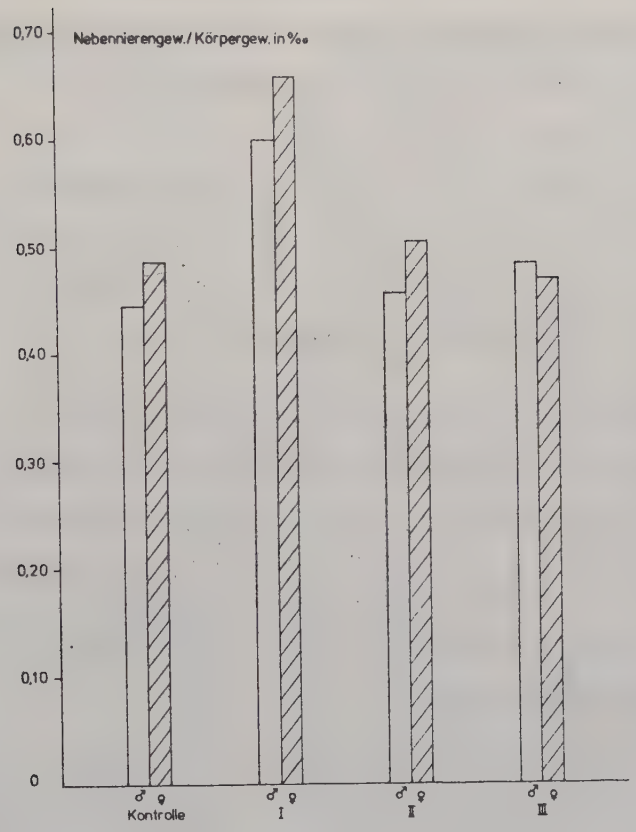

Abb. 3: Relatives Nebennierengewicht in ‰ des Körpergewichtes der Neugeborenen nach Oestrogen-Behandlung der Mütter in der Gravidität.

I = Behandlung 15. - 17. Tag der Gravidität
II = Behandlung 15. - 19. Tag der Gravidität
III = Behandlung 19. - 21. Tag der Gravidität

Legende zu Abb. 4 der folgenden Seite:

Nebennierenrinde der neugeborenen Ratte nach Oestrogen-Behandlung der Mutter in der Gravidität.

K = Kontrolle

I = Behandlung vom 15. - 17. Tag der Gravidität

II = Behandlung vom 17. - 19. Tag der Gravidität

III = Behandlung vom 19. - 21. Tag der Gravidität

Färbung Goldner; Vergrößerung 250-fach.

In den mit Oestradiol-benzoat behandelten Gruppen I, II und III fällt in der Zona fasciculata eine Anschwellung des Zelleibes auf, die besonders deutlich in Gruppe II ist. Diese Anschwellung und Aufhellung des Cytoplasmas ist Ausdruck einer Speicherung der Steroidvorstufen bei offenbar Oestrogen-bedingter Hemmung der Steroidsynthese.

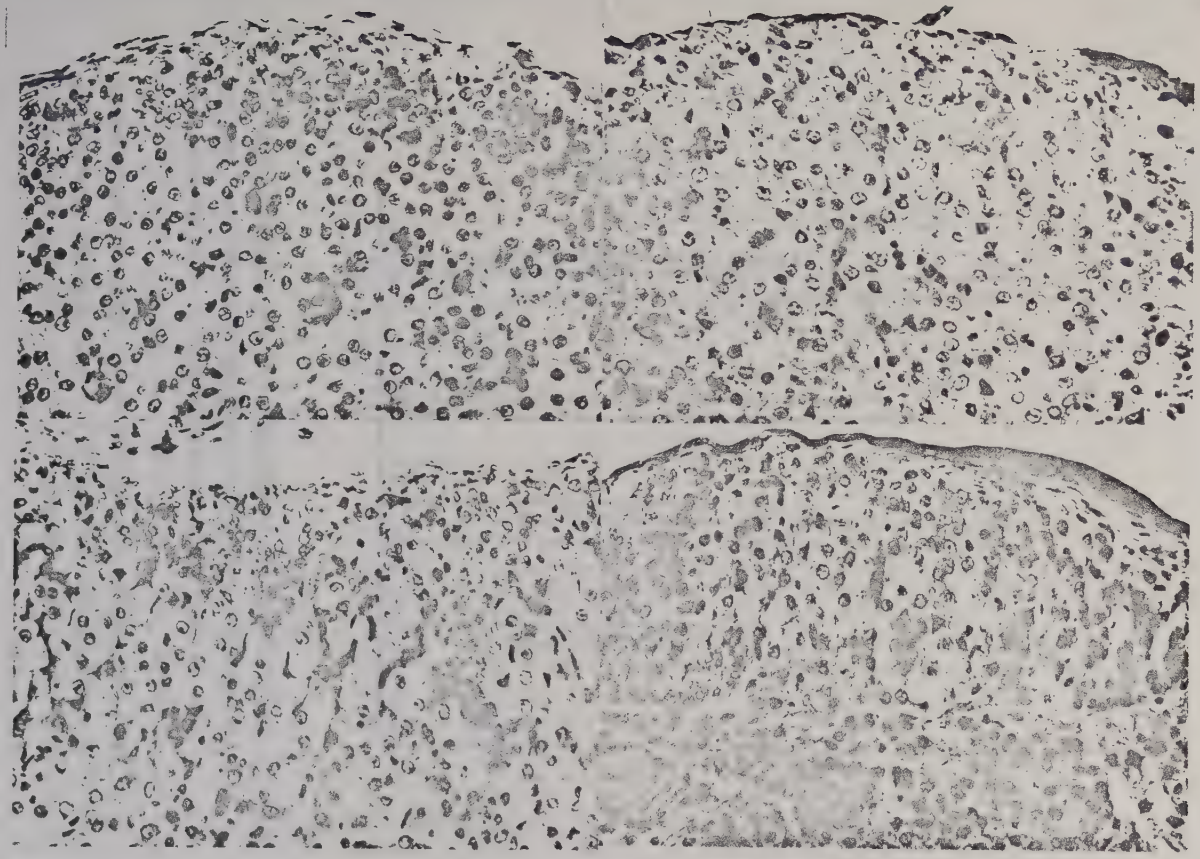

Abb. 4

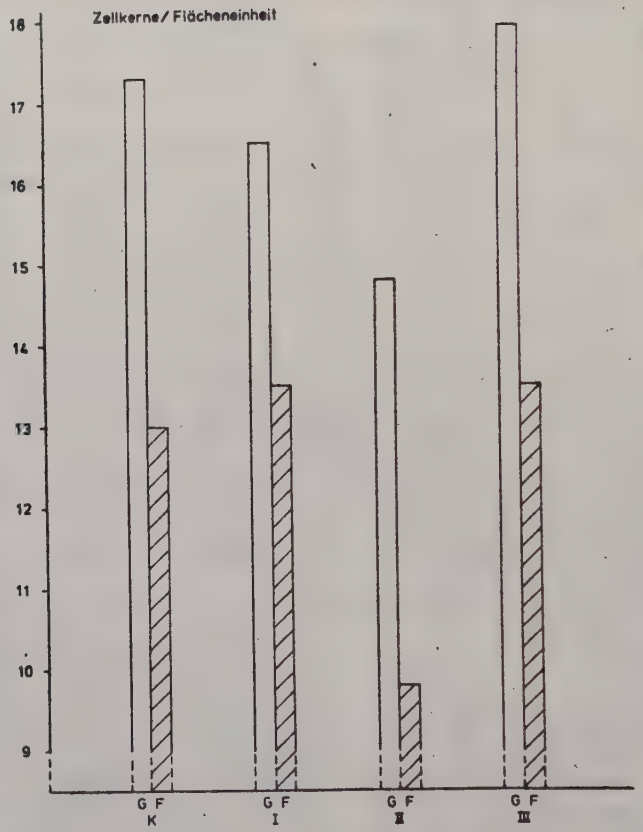

Abb. 5: Mittelwerte der Kernzahl der Nebennierenrinde / konstante Fläche in der Zona glomerulosa (G) und der äußeren Zona fasciculata (F) der neugeborenen Ratten.

I = Behandlung der Mütter 15. - 17. Tag der Gravidität
II = Behandlung der Mütter 17. - 19. Tag der Gravidität
III = Behandlung der Mütter 19. - 21. Tag der Gravidität
K = Kontrolle

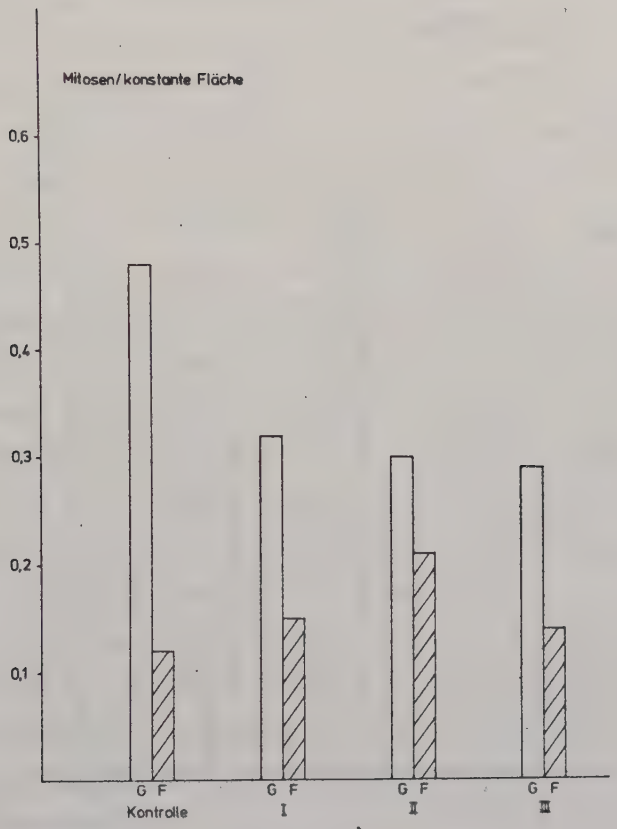

Abb. 6: Mitoserate pro konstante Fläche (Mittelwert/ Rastereinheit. G = Zona glomerulosa, F = Zona fasciculata).

I = Behandlung der Mutter 15. - 17. Tag der Gravidität
II = Behandlung der Mutter 17. - 19. Tag der Gravidität
III = Behandlung der Mutter 19. - 21. Tag der Gravidität

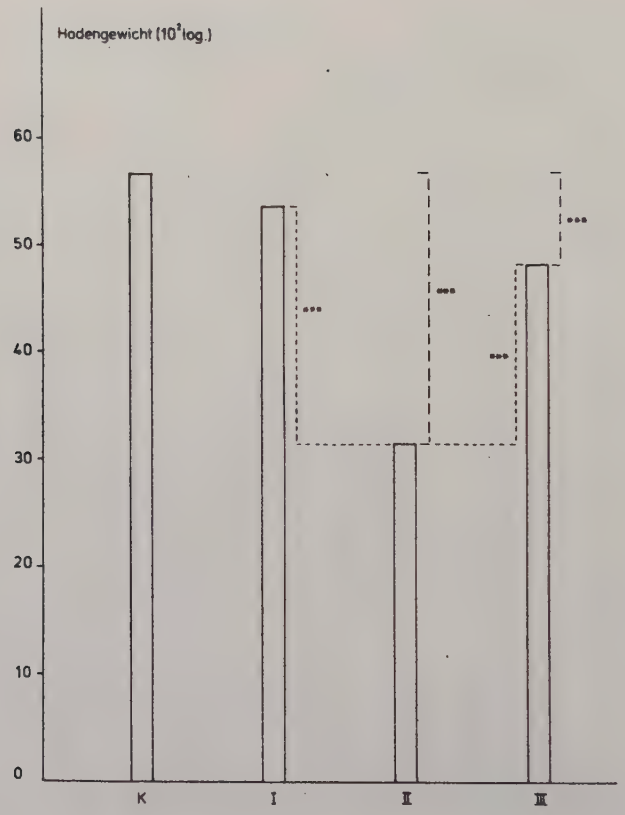

Abb. 7: Hodengewichte der Neugeborenen nach Oestrogen-Behandlung der Mütter.

I = Behandlung der Mütter 15. - 17. Tag der Gravidität
II = Behandlung der Mütter 17. - 19. Tag der Gravidität
III = Behandlung der Mütter 19. - 21. Tag der Gravidität
jeweils mit Oestradiolbenzoat
K = Kontrolle

D. Diskussion der Befunde:

Nach Gaben von Oestrogenen an das Muttertier zu verschiedenen Zeitpunkten und in verschiedenen Phasen der späten Gravidität konnte bei den neugeborenen Ratten eine deutliche Verminderung der Körper-, Nebennieren- und Hodengewichte nachgewiesen werden, abhängig vom Zeitpunkt der Behandlung (s. Abb. 1, 2, 7). Besonders deutlich ist diese Gewichtsminderung bei einer Oestrogen-Behandlung der Mutter vom 17. - 19. Tag (Gruppe II) der Gravidität. Aus der Mitoserate der fetalen Nebennierenrinde ist zu erkennen (s. Abb. 6), daß eine deutliche Proliferationshemmung die Ursache dieser Veränderungen ist. In der Gruppe II sind diese Veränderungen am deutlichsten nachgewiesen (s. Abb. 4), und auch aus Kernzahl pro konstante Fläche geht dies hervor.
Die histologischen Befunde und auch zum Teil die Kernzählungen pro konstante Fläche in der Glomerulosa und äußerer Fasciculata zeigen, daß die Gewichtsminderung der Nebenniere z. T. mit einer Zunahme der Zellgröße einhergeht.
Die Befunde an den neugeborenen Ratten zeigen somit Veränderungen, die erkennen lassen, daß durch die Oestrogen-Gaben an die Mutter der fetale adreno-hypophysäre Regelkreis beeinflußt wird. Fragen wir nach dem Mechanismus, so erheben sich folgende Fragen:

1. Wie wird das fetale Hypophysen-Nebennierenrinden-System durch die Oestrogene beeinflußt?

2. Welche Folgen hat die Oestrogen-Behandlung auf die Muttertiere und wie wirken sich diese wiederum auf die Feten aus?

Zu Frage 1:

Die histologisch nachgewiesenen herdförmigen Anschwellungen der Zellen im Bereich der äußeren Fasciculata der neugeborenen Ratten (s. Abb. 4) bei den mit Oestrogen vorbehandelten Gruppen läßt an Speicherungsvorgänge in der Nebennierenrindenzelle denken. Dieses Phänomen hat auch EGUCHI (1962) nach Adrenalektomie kombiniert mit Ovariektomie der Mutter bei Rattenfeten beobachtet. Der Eindruck, daß hier eine Speicherung in den Zellen stattfindet, erinnert an die Befunde GOLDMAN's (1968), der nach Oestrogen-Gaben (Oestradiol-17ß in allerdings sehr viel höherer Dosierung) in der späten Gravidität eine dem AGS+ähnliche Nebennierenhyperplasie der Ratte erzeugt hat; als deren Ursache nimmt er eine Blockade der 3-ß-ol-Dehydrogenase an: Durch den Ausfall dieses Fermentes werden zwar die Vorstufen der Steroidbiosynthese in der Zelle aufgenommen, können aber nicht umgebaut werden und lassen durch Speicherung den Zelleib anschwellen. Dieses Phänomen beobachtete GOLDMAN jedoch nur bei Behandlung vom 19. Tag der Gravidität an. Frühere

+ Adrenogenitales Syndrom

Applikation des Oestradiol-17-ß führt wie in unseren Versuchen zu einer Minderung des Nebennierengewichtes. Ein Vergleich unserer Befunde mit den Befunden von GOLDMAN ist deshalb erschwert, wenn nicht unmöglich, weil das von GOLDMAN verwendete Oestradiol-17-ß eine kürzere Wirkungsdauer besitzt als das von uns benutzte Oestradiolbenzoat (KUSCHINSKY et al., 1970) und mit unterschiedlicher Dosierung gearbeitet wurde. Die in unserer Versuchsgruppe I (15. - 17. Tag) nachweisbare Angleichung der Nebennierengewichte der Neugeborenen an die Kontrollgruppe ist so zu deuten, daß eine Erholung bis zur Geburt nach dem hemmenden Einfluß der Oestrogene eingetreten ist. Dagegen ist der Einfluß der Oestrogen-Behandlung auf das Körpergewicht in dieser Gruppe noch deutlich nachweisbar, wodurch das relative Nebennierengewicht in dieser Gruppe sogar höher ist als das der Kontrollgruppe (s. Abb. 3). Eine verstärkte Mitoserate ist in der Nebennierenrinde jedoch nicht erkennbar.

Durch die Oestrogen-Behandlung wird in der Gruppe III, deren Mütter vom 19. bis 21. Tag behandelt wurden, ein hoch gesicherter Gewichtsunterschied in der Wirkung auf die männlichen und weiblichen Nebennieren beobachtet: Während in dieser Gruppe das Nebennierengewicht der Männchen nur zufällig von der Kontrollgruppe verschieden ist, ist das der Weibchen hoch signifikant niedriger

(s. Abb. 2). Dieser Effekt ist bisher nicht zu deuten und bedarf weiterer eingehender Abklärung.

Folgende pathogenetischen Möglichkeiten kommen in Betracht:

1. Eine Oestrogen-bedingte geschlechtsdifferente Beeinflussung des fetalen adreno-hypothalamo-hypophysären Regelkreises, obwohl eine geschlechtsdifferente Reaktion des Hypothalamus erst in späteren Phasen der Entwicklung auftritt.

2. Eine unmittelbare geschlechtsdifferente Reaktion der Nebennierenrindenzelle selbst.

3. Eine geschlechtsdifferente Beeinflussung des Abbaues der Corticosteroide in der Leber.

Die Dosisabhängigkeit der Oestrogen-Wirkung ist auch von anderen Autoren nachgewiesen worden. So hat EGUCHI (1962) durch Ovariektomie gravider Ratten eine Nebennierenatrophie der Feten erzielt, die durch geringere Oestrogen-Gaben verhindert wurde, durch höhere Dosen, die jedoch noch unter unserer Dosierung lagen, verstärkt wurde. Hohe Oestrogen-Dosen hemmen die Organentwicklung und auch die gesamte Entwicklung des Feten. Bei excessiv hohen Dosen stirbt die Frucht ab wie in unseren Vorversuchen. Das haben auch GUSTAFSSON et al. (1959) bei Hunden (Beagles) beobachtet.

Zu Frage 2:

Diese Befunde verlangen Antworten auf die Fragen, wie die Oestrogene auf die erwachsenen Rattennebennieren, insbesondere der graviden Tiere, wirken, und wie man sich die Wechselbeziehungen zwischen mütterlicher und reifender fetaler Nebenniere und die entsprechenden Regelkreise vorzustellen hat. Bei männlichen erwachsenen Ratten wird regelmäßig durch Oestrogen-Applikation eine deutliche Nebennieren-Hyperplasie bewirkt (BRAID 1949; VOGT 1955; SUCHOWSKY 1958; GOLDBERG 1958; CLAYTON et al. 1959; PIROTH 1961, 1963; KITAY 1963; SUVIMA 1968; u. a.). Bei weiblichen Ratten ist dieser Effekt nicht immer ganz so deutlich (ELLISON et al. 1936; BRAID 1949; TUCHMAN-DUPLESSIS et al. 1953; FONZO et al. 1967; u. a.) bzw. nicht nachweisbar (KITAY 1963). SUVIMA (1968) bewirkte durch Oestradiolpropionat bei weiblichen erwachsenen Ratten ein gleichbleibendes oder gering vermindertes Nebennierengewicht. Dieses abweichende Verhalten der weiblichen Rattennebennieren erklärt SUVIMA (1968) durch ein erhöhtes Ausgangsniveau der Funktionsaktivität der Nebennierenrinde der weiblichen Tiere. Dabei weisen die erwachsenen weiblichen Ratten das höhere Nebennierengewicht auf. Dieser seit langem bekannte Geschlechtsdimorphismus ist korreliert mit histologischen Befunden (DHOM et al. 1971), die sich elektronenmikroskopisch durch Unterschiede der Liposomen, des Kerns und

und der Mitochondrien auszeichnen (MÄUSLE 1971). Wie bei unseren Versuchen wurde bei graviden Ratten von EGUCHI et al. (1962) und GOLDMAN (1968) eine eindeutige Nebennieren-Hyperplasie erzeugt.

Die Ursache der Oestrogen-bedingten Nebennieren-Vergrößerung der erwachsenen Ratten wird in einem "Stress" gesehen (ELERT 1956; GOMPERTZ 1958; EGUCHI 1962), wobei eine vermehrte ACTH-Produktion (GEMZELL 1952) die Nebennierenrinden stimuliert. Schon die physiologische Oestrogen-Produktion der Plazenta führt zu einer ACTH-Stimulation (ELERT 1956). Umgekehrt wird bei hypophysektomierten Ratten kein Oestrogen-Effekt an den Nebennieren beobachtet.

Da Cholesterin der Hauptvorläufer der Nebennierenhormone ist (DICZFALUSY et al. 1961) und bei erwachsenen Ratten unter Oestrogen-Behandlung eine Blockade der Cholesterinsynthese in der Leber bewirkt wird (ROSENMAN et al. 1952; BOYD et al. 1956; DICZFALUSY et al. 1961), soll unter Oestrogen-Einwirkung auf diesem Wege die Steroidbildung auch der Nebennierenrinde gehemmt werden (DICZFALUSY et al. 1961). Dennoch kommt es in einer zweiten Phase "zu einer reaktiven Mehrbildung und Ausschüttung von ACTH, wonach jetzt die Steroidausscheidung ansteigt" (DISZFALUSY et al. 1961). ROBERTSON et al. (1959) stellten zudem beim Menschen eine Verlängerung

der Verweildauer und eine Erhöhung des Corticosteroidblutspiegels durch Oestrogene fest. DICZFALUSY et al. (1961) nimmt eine Verlangsamung des Corticosteroidabbaues unter Oestrogen-Wirkung an.

Nach neueren Befunden gibt es einen geschlechtsdifferenten Abbau der Steroide in der Leber. Bei der weiblichen Ratten verläuft durch die niedrigere mikrosomale Δ_4-5α-Hydrogenase-Aktivität der Leberzelle der Abbau der Steroide langsamer als bei den Männchen (SCHNEIDERS 1969). Oestrogene sollen diese Hydrogenase induzieren, Androgene sie hemmen. Mithin wird bei unserer Versuchsanordnung - wenn diese Befunde auf gravide Ratten übertragbar sind - ein doppelter Effekt erzeugt: erstens eine Steigerung der ACTH-Sekretion mit Hypercorticismus und gleichzeitig ein rascherer Abbau der Steroide. Berücksichtigt man die Wirkungen auf den Fet, so scheint die vermehrte Steroidproduktion der mütterlichen Nebennierenrinde gegenüber dem Abbau zu überwiegen. Erst Langzeitbehandlung mit Oestrogenen führt zu einer Abnahme der Nebennierengewichte (CLAYTON et al. 1959) offenbar im Sinne einer Erschöpfung.

Diese Untersuchungen werfen die Frage auf, ob es zu einer Blockade der erwachenden fetalen Hypophysenfunktion durch Einschwemmung vermehrter mütterlicher Corticosteroide in den fetalen Kreislauf kommt und ob

überhaupt Corticosteroide die Plazenta passieren können. Daß das fetale Hypophysen-Nebennieren-System durch die mütterliche Nebenniere gezügelt wird, läßt sich durch mehrere Versuche beweisen:
So führt eine Adrenalektomie der Mutter am Ende der Gravidität zu einer kompensatorischen Hyperplasie der fetalen Nebenniere (HOUSSAY 1945; WALAAS et al. 1944; INGLE et al. 1938; DAVIS et al. 1954; KNOBIL et al. 1955; CHRISTIANSON et al. 1957; JOST et al. 1955; PICON 1958; ANGERVALL et al. 1954). DAVIS und PLOTZ (1954) verhinderten die Hyperplasie fetaler Nebennieren adrenalektomierter trächtiger Ratten durch Cortisonacetat. KITCHELL et al. (1952) verhinderten ebenfalls die Hyperplasie der verbleibenden fetalen Rattennebenniere nach einseitiger Adrenalektomie der Feten durch Cortisonacetat.

Durch kombinierte Adrenalektomie und Hypophysektomie wird die Gesamtentwicklung des Feten gehemmt (CHRISTIANSON et al. 1957; NOUMURA 1959), nach PICON (1958) eine Hypertrophie der Nebenniere bewirkt. Die Hypophysektomie der Mutter allein führt dagegen zu keinem quantitativ faßbaren Effekt an den Nebennieren, wenn sie in der späten Gravidität durchgeführt wurde (KNOBIL et al. 1954, 1955; YAKAITIS et al. 1956; CHRISTIANSON et al. 1957; ANGERVALL et al. 1963), eine frühzeitige Hypophysektomie der Mutter (13. Tag) bewirkt jedoch beim Feten ein

überschießendes Anwachsen des relativen Nebennierengewichtes (PICON 1958).

Andererseits beobachtete COHEN (1963), daß schon ein einfacher chirurgischer Eingriff an der graviden Ratte zu einer Gewichtsverminderung der fetalen Nebenniere führt, die sie als Folge der stressbedingten Corticosteronausschüttung der mütterlichen Nebenniere deutet.

Nach diesen Befunden wird heute einheitlich angenommen, daß Corticosteron die Plazenta passiert (KITCHELL et al. 1952; JONES et al. 1953; DAVIS et al. 1954; MITCH[illegible] et al. 1956; COURRIER et al. 1961; CHRISTIANSON et al. 1957; MILCOVIC et al. 1963).

Dagegen kann mütterliches ACTH die Plazenta nicht passieren (WELLS 1948; KITCHELL et al. 1952; JONES et al. 1953; JOST 1954; CHRISTIANSON et al. 1957; EGUCHI 1960; MILKOVIC et al. 1969). Deshalb müssen Störungen des Steroidblutspiegels in einem der Regelkreise entweder zu einer Drosselung oder zu einer Stimulation der ACTH-Produktion führen. [illegible]-Behandlung beeinflußt die Wechselbeziehungen zwischen Mutter und Fet in der Weise, daß der durch die Oestrogene bedingte Hypercorticismus der Mutter die fetale Entwicklung der Nebenniere hemmt. Das heißt, daß das Oestradiolbenzoat nicht nur unmittelbar auf die fetale Nebenniere wirkt, sondern indirekt über die stimulierte

Nebenniere der Mutter. In der späten Gravidität beginnt die fetale Hypophysenfunktion (JONES et al. 1953; JOST 1955, 1966; COHEN 1959 und 1960; MILKOVIC et al. 1962; ROOS 1963 und 1967). Nimmt man mit MILKOVIC et al. (1969) an, daß die Funktion der fetalen Rattenhypophysen am 18. - 18,5. Tag erwacht, so ergibt sich, wie auch EGUCHI (1962) vermutete, daß durch Oestrogen-Applikation an gravide Ratten in der späten Fetalzeit durch die vermehrte Corticosteroidproduktion das fetale Nebennieren-Hypophysen-System gehemmt und eine Atrophie der fetalen Nebennieren bewirkt wird. Die höchsten Grade der Nebennierenatrophie erreichten wir in der Versuchsgruppe II, die gerade zu dieser Zeit der erwachenden Hypophysenfunktion vom 17. - 19. Tag mit Oestrogen behandelt wurde. Die geringen Nebennierenveränderungen in der Gruppe I, die vor dem Eintritt der Hypophysenfunktion behandelt wurde, sind als Folge eines inzwischen erfolgten Erholungsprozesses zu deuten.

Es hemmen also die unter Oestrogenen bei der Mutter vermehrt gebildeten Corticosteroide die Proliferation und zusammen mit den Oestrogenen die Funktion der fetalen Nebennierenrinde.

Die Körpergewichte der neugeborenen Ratten sind nach den von uns verabreichten Oestrogen-Gaben in der späten Gravidität in allen Gruppen gegenüber der Kontrolle deutlich vermindert. Das bedeutet, daß auch die Gesamtentwicklung des Feten gehemmt wird. Diese Proliferationshemmung kann entweder nur auf der Einwirkung der Oestrogene oder aber auf dem mütterlichen Hypercorticismus beruhen. Der hoch gesicherte Geschlechtsunterschied der Körpergewichte bei den Kontrollen und der Gruppe III entspricht der schon von COHEN 1963, l. c. Tab. IV, S. 304) nachgewiesenen Tendenz, wonach das Körpergewicht der Männchen vom 18. Tag der Gravidität an stärker zunimmt als das der Weibchen.

Die Hodenentwicklung in der späten Fetalzeit der Ratte wird zweifellos durch die Hypophyse reguliert. Das geht aus Untersuchungen von EGUCHI et al. (1968) hervor, die nach intrauteriner Hypophysektomie (Dekapitation) am 20. Tag der Gravidität eine Retardierung der Hodenentwicklung beobachteten, die durch gleichzeitige Gabe von Gonadotropinen (GTH) verhindert wurde. Für unsere Befunde bedeutet das, daß offenbar durch Oestrogen-Gaben in der späten Gravidität die gonadotrope Funktion der reifenden Hypophyse eingeschränkt wurde. Im Zusammenhang mit den Befunden der Nebennieren ist anzunehmen, daß mehrere Partialfunktionen der fetalen Hypophyse beeinflußt wurden.

Die Ovarien der neugeborenen Ratten zeigten unter den Oestrogen-Gaben keine Gewichtsveränderungen gegenüber der Norm.

E. Zusammenfassung

Vom 15. - 17. Tag (Gruppe I), vom 17. - 19. Tag (Gruppe II) und vom 19. - 21. Tag (Gruppe III) der Gravidität wurden Wistarratten mit Oestradiolbenzoat in einer Dosierung von 1 mg in 0,2 ml öliger Lösung pro 100 g Körpergewicht einmal täglich behandelt. Die Neugeborenen wurden am Tag der Geburt getötet und das Verhalten der Körper-, Nebennieren- und Gonadengewichte untersucht. Bei den Nebennieren wurde ferner die Kerndichte pro konstante Flächeneinheit, die Mitoserate und die histologischen Veränderungen untersucht.

Die Oestradiolbenzoatzufuhr während der Gravidität hemmt den Eintritt der Geburt und verursacht bei den Müttern eine Nebennierenrindenhyperplasie. Die Neugeborenen zeigten eine unterschiedlich starke Minderung des Körper-, Nebennieren- und Hodengewichtes gegenüber der Kontrollgruppe. Obwohl die Nebennieren der Neugeborenen verkleinert waren, die mit einer Minderung der Mitoserate pro konstante Fläche korreliert war, konnten wir histologisch herdförmig eine Vergrößerung der Rindenzellen

besonders in der äußeren Zona fasciculata beobachten, als deren Ursache eine Steroidsynthesestörung vermutet wird. Bei den Müttern bewirkte offenbar Oestradiolbenzoat über eine vermehrte ACTH-Produktion bei gleichzeitiger wohl unvollkommener Steroidsynthesehemmung und Stimulation des Glucocorticoidabbaues in der Leber eine Nebennierenhyperplasie mit einer Erhöhung des Steroidblutspiegels. Da die Nebennierensteroide die Plazenta passieren können, hemmen diese wohl über die sich entwickelnde fetale Hypophyse die Entwicklung der fetalen Nebennierenrinde. Da auch die fetalen Hoden, nicht jedoch die Ovarien durch die Oestrogen-Behandlung in ihrem Wachstum gehemmt wurden, ist anzunehmen, daß auch die gonadotrope fetale Hypophysenfunktion beeinflußt wurde.

F. Schrifttum

Akasu, F., C. Otani, C. a. Y. Konishi — Estrogen and adrenal cortex. J. Jap. Obstet. Gynaec. Soc. 3 (1956), 141 - 158

Angervall, L. — Adrenalectomy in pregnant rats. Effects on offspring. Acta endocr. (Kbh) 41 (1962), 546 - 560

Angervall, L., P. M. Lundin — Hypophysectomy in Pregnant Rats. Acta endocr. (Kbh) 42 (1963), 591 - 600

Angervall, L., P. M. Lundin — Corticosteroid Action on the Fetal Thymus and Spleen. Endocrinology 74 (1964), 986 - 989

Borglin, N. E., L. Bjersing — The pituitary and adrenal responses to administration of estriol in gonadectomized rats. Acta endocrinol. (Kbh) 38 (1961), 50 - 58

Boyd, G. S., W. B. Mc Guire — The effect of hexoestrol on cholesterol metabolism in the rat. Biochem. J. 62 (1956), 19 p

Brand, M. — The influence of stilboestrol on the size of the adrenal glands. Arch. int. Pharmacodyn. 79 (1949), 298 - 305

Chowers, J., S. M. MC Cann — Comparison of the effect of hypothalamic and pituitary implants of estrogen and testosterone on reproductive system and adrenal of fetale rats. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 124 (1) (1967), 260 - 266

Christianson, M., J. C. Jones — The interrelationship of the adrenal glands of mother and foetus in the rat. J. Endocr. 15 (1957), 17 - 42

Clayton, B. E., J. E. Hammant — Effects of oestrogenes and ACTH on the adrenals of the guinea pig compared with those in the rat. J. Endocr. 18 (1959), 90 - 97

Cohen, A. — Croissance de la surrénale chez le foetus de Rat et le nouveau-né. C. R. Soc. Biol. Paris 152 (1958), 1956 - 1959

Cohen, A. — Poids des surrénales du foetus de Rat décapité, injecté d'hydrocortisone ou de corticostimuline à divers stades du développement. C. R. Soc. Biol. (Paris) 154 (1960), 1395 - 1400

Cohen, A. — Corrélation entre l'hypophyse et le cortex surrénale chez le foetus de rat. Le cortex surrénal du nouveau-né. Arch. Anat. micr. Morph. exp. 52/2 (1963), 277 - 407

Courrier, R., R. Guillemin, A. Cologne, E. Sakiz — Réponse corticosurrénalienne à l'hormone hypophysaire corticotrope chez le rat, en fonction du sexe. C. R. Acad. Sci. (Paris) 232, Nr. 23 (1951), 3520 - 3524

Davis, M. E., E. J. Plotz — The effect of cortisone acetate on intact and adrenalectomized rats during pregnancy. Endocrinology 54 (1954), 304 - 305

Dhom, G., H. B. von Seebach, G. Stephan — Der Geschlechtsdimorphismus der Nebennierenrinde der Ratte. Lichtmikroskopische und histometrische Untersuchungen. Z. Zellforsch. 115, (1971), 119 - 135

Diczfalusy, E., C. H. Lauritzen — Oestrogene beim Menschen. Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1963), 171 - 177

Dolch, H. — Vergleichende Untersuchungen an der Nebennierenrinde kastrierter und intakter Ratten nach Zufuhr oestrogener Substanzen. Dissertation, Saarbrücken-Homburg/Saar (1965)

Eguchi, Y. — Experimental Studies on the Adrenal Cortex of the House-Fetus. I. Effects of Maternal Adrenalectomy on the Adrenal of the Fetus based on Histology and Volume Determination. Embryologia 5 (1960), 203 - 218

Eguchi, Y. — Interrelation between fetal adrenals and maternal ovaries: atrophy of the fetal rat adrenal following ovariectomy of the mother rat. Endocrinology 71 (1962), 31 - 35

Eguchi, Y., Y. Morikowa — Changes in pituitary-gonadal interrelations during perinatal days in the rat. Anat. rec. 161 (1968), 163 - 170

Elert, R. — Wechselbeziehungen zwischen Placenta, mütterlichen und fetalen Nebennieren. 3. Symp. Dtsch. Gesellsch. Endocrin., Berlin (1955), 204

Ellison, E. T., J. C. Burch — The effect of estrogenic substances upon the pituitary, adrenals and ovaries. Endocrinology 20 (1936), 746 - 752

Fonzo, D., R. B. Minos, D. H. Nelson — Estrogen influence on pituitary and adrenal function in the rat. Endocrinology 81 (1967), 29 - 33

Gemzell, C. A. — Increase in the formation and the secretion of ACTH in rats following administration of oestradiol-monobenzoat. Acta endocrin. 11 (1952), 221 - 228

Glasser, S. R., J. H. Leathem — The influence of diet on the recovery of the rat adrenal from stilbestrol induced stress. Endocrinology 56 (1955), 420 - 428

Goldman, A. S. — Production of Congenital Adrenocortical Hyperplasie in rats by estradiol-17ß and inhibition of 3-ß-hydroxysteroid Dehydrogenase. J. clin. Endocr. 28 (2) (1968), 231 - 238

Gompertz, D. — The effect of sex hormones on the adrenal gland of the male rat. J. Endocr. 17 (1958), 107 - 113

Gustafsson, O., C. G. Beling — Estriolinduced changes in Beagle pups: Effects of prenatal and postnatal administration. Endocrinology 85 (1969), 481 - 491

Heskett, B., J. Hoffman — The effect of massive doses of stilbestrol upon the suprarenal gland of the rat. Quart. Bull. Northw. Univ. med. Scho. 17 (1943), 203 - 208

Houssay, B. A. — Acción de la insuficiencia suprarenal durante la preñez sobre la madre y el hijo.
Rev. Soc. argent. Biol. 21 (1945), 316 - 331

Ingle, D. J., G. T. Fisher — Effect of Adrenalectomy during Gestation on the size of the Adrenal Glands of Newborn Rats.
Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 39 (1938), 149 - 150

Jones, M. C., C. W. Lloyd, T. C. Wyatt — A study of the interrelationships of maternal and fetal adrenal glands of rats.
Endocrinology 53 (1953), 182 - 191

Jost, A. — (1954), zitiert bei Goldman (1968)

Jost, A., R. Jaquot, A. Cohen — Sur les interrelations entre les hormones corticosurrénaliennes maternelles et la surrénale du foetus de rat.
C. R. Soc. Biol. (Paris) 149 (1955), 1319 - 1322

Jost, A. — Problems of fetal Endocrinology. The adrenal glands.
Recent Progr. Hormone Res. 22 (1966), 541 - 574

Junge-Hülsing, G., I. Kuckulies, H. Wagner, W. H. Hauss — Untersuchungen über die Wirkung von Oestradiol und konjugierten Oestrogenen auf den Mesenchymstoffwechsel, das Nebennierengewicht und den Corticoidspiegel im Serum von Ratten.
15. Symposion der Deutscher Gesellschaft für Endocrinologie in Köln vom 5. - 8. März 1969, Oestrogene, Hypophysentumoren. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 161 - 162

Kitay, J. J. — Effects of estradiol on pituitary-adrenal function in male and female rats.
Endocrinology 72 (1963), 947 - 954

Kitchell, R. L., L. J. Wells — Functioning of the Hypophysis and Adrenals in Fetal Rats: Effects of Hypophysectomy, Adrenalectomy, Castration, injected ACTH and implanted sex hormones.
Anat. Rec. 112 (1952), 561 - 591

Knobil, E. — Effects of hypophysectomy, ACTH, Cortisone and estradiol on the glucoronidase activity of adrenal gland in the rat. Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 83 (1953), 769 - 770

Knobil, E., F. N. Briggs — Mechanism of fetal hypertrophy in the adrenalectomized pregnant rat. Fed. Proc. 13 (1954), 80

Knobil, E., F. N. Briggs — Fetal-maternal endocrine interrelations: The hypophyseal-adrenal system. Endocrinology 57 (1955), 147 - 152

Korenchevsky, V., M. Dennison — Histological changes in organs of rats injected with oestrone alone or simultaneously with testicular hormone. J. Path. Bact. 41 (1935), 323 - 337

Koßwig, W. — Die Aufspaltung der Wechselwirkung 1. Ordnung aus n x k-Tafeln. Biometr. Z. 12/3 (1970), 137 - 151

Koßwig, W. — Die Analyse der Wechselwirkungen Tier/Zeit in Zeit-Wirkungskurven mit korrelierten Beobachtungen. Referat 7th Int. Biom. Conf. Hannover (1970), Publikation (Biometrics) in Vorbereitung

Kruskal und Wallis — zitiert bei Lienert, G. H. Verteilungsfreie Methoden in der Biostatistik, Verl. Anton Hain, Meisenheim am Glan (1962), 117 ff.

Kuschinsky, G., H. Lullmann — Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie. Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1970), 212 - 213

Mäusle, E. — Geschlechtsunterschiede in der Ultrastruktur der Nebennierenrinde der Ratte. Z. Zellforsch. 116 (1971), 136 - 150

Matakas, F. — Tierexperimentelle Untersuchungen über morphologische Veränderungen nach langdauernder Behandlung mit somatotropem Hormon und Oestrogen. Dissertation, Hamburg 1965

Mc Kerns, K. W., E. Coulomb, E. Kalcita, L. C. De Renzo — Some effects of in vivo administered oestrogens on glucose metabolism and adrenal cortical secretion in vitro. Endocrinology 63 (1958), 709 - 727

Migeon, C. J., H. Prystrowsky, M. M. Grumbach, M. C. Bryon — Placental passage of 17-hydroxycorticosteroids: Comparison of the levels in maternal and fetal plasma and effect of ACTH and hydrocortisone administration. J. Clin. Invest. 35 (1956), 488 - 493

Milković, K., S. Milković — Studies on the pituitary-adrenocortical system in fetal rat. Endocrinology 71 (1962), 799 - 802

Milković, K., S. Milković — Functioning of the pituitary-adrenocortical axis in rats at and after birth. Endocrinology 73 (1963), 535 - 539

Milković, S., K. Milković — Development of response to stress. Progress in Endocrinology (Carlos Gual). Excerpta med. found. (Amst.) (1969), 1077 - 1081

Noumura, T. — Development of the hypophyseal-adrenocortical system in the rat embryo in relation to the maternal system. Jap. J. Zool. 12 (1959), 279 - 301

Ott, W. — Pluriglandulärer "Rebound-Effekt" bei neugeborenen Ratten nach Glukokorticoidgaben in der Schwangerschaft. Inauguraldissertation Homburg/Saar (1971)

Picon, L. O. — Action de l'hypophyse et des surrénales maternelles sur le poids des surrénales du foetus de Rat. C. R. Soc. Biol. (Paris) 152 (1958), 1469 - 1472

Pinto, R. M. — Accion del Ovario sobre la suprarenal. Dissertation, Buenos Aires (1941)

Piroth, M. — Veränderungen an der NNR der männlichen Ratte während der "chemischen Kastration" durch oestrogene Substanzen. Endokrinologie 40 (1961), 280 ff.

Piroth, M. — Die Veränderungen an der Nebennierenrinde der intakten, reifen männlichen Ratte durch natürliche und synthetische Oestrogene und ihre Wechselbeziehungen zu Leber und Hoden. (Beitrag zur morphologischen Funktionsdiagnostik) Annales Universitatis Saraviensis, Medizin, 10 (1963)

Robertson, M. E., M. Stiefel, J. C. Laidlaw — The influence of estrogen on the secretion, disposition and biologic activity of cortisol. J. clin. Endocr. 19 (1959), 1381 - 1396

Roos, T. B. — Production of steroids by embryonic adrenal glands. American Society of Zoologists 4 (1963), 492

Roos, T. B. — Steroid synthesis in embryonic and fetal rat adrenal tissue. Endocrinology 81 (1967), 716 - 728

Rosenman, R. H., Meyer Friedmann, S. O. Byers — The effect of various hormones upon the hepatic synthesis of cholesterol in rats. Endocrinology 51 (1952), 142 - 147

Sachs, L. — Statistische Auswertungsmethoden. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York (1968)

Schriefers, H. — Regulationen des Steroidhormon-Stoffwechsels in der Leber. In: Wannagat, L.: Leber, Endokrinium und Wasserhaushalt, 34 - 46, G. Thieme, Stuttgart (1969)

Seeliger, H. — Über die Wirkung von Oestrogen- und Glucocorticoidgaben auf die Nebennierenrindenentwicklung des Feten (Untersuchungen an neugeborenen Ratten). Habilitationsschrift der Hohen Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes (1971)

Selye, H., L. Fortier, P. Bois — Role of adrenals and ovaries in resistance to massive doses of estradiol. Surg. Gynec. Obstet. 101 (1955), 744-755

Suchowsky, G. — Einfluß von Sexualhormonen auf die Nebennieren der Ratte. Acta endocr. (Kbh.) 27 (1958), 225 - 236

Suvina, M. N. — Effect of sex hormones on the activity of 3-ß-ol-dehydrogenase in rat adrenal cortex.
Probl. Endokrinol. 14 (5) (1968), 85-93

Tuchmann-Duplessis, H., C. Levasseur — L'action des oestrogènes naturels et de synthese sur le cortex surrénal du rat.
Bull. Micr. appl. 3 (1953), 9ff.

Vogt, M. — Inhibition by Hexoestrol of adreno-cortical secretion in the rat.
J. Physiol. (Paris) 130 (1955), 603 - 614

Vogt, M. — The effect of Hexoestrol and "Amphenone B" on morphology and function of the rat adrenal cortex.
Yale J. Biol. Med. 29 (1957), 439 ff.

Walaas, E., O. Walaas — Studies of the compensatory hypertrophy of the fetal adrenal glands in the albino rat, produced by adrenalectomy during pregnancy.
Acta path. microbiol. scand. 21 (1944), 640 - 672

Weber, E. — Grundriß der biologischen Statistik.
G. Fischer Verlag, Stuttgart (1957)

Wells, L. J. — Some experimental Evidence of Production of Adrenotrophin by the Fetal Hypophysis.
Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 68 (1948), 487 - 488

Wrenn, T. R., J. R. Wood, J. Bitman — Oestrogen response of rats neonatally sterilized with steroids.
J. Endocr. 45 (1969), 415 - 420

Yakaitis, A., L. J. Wells — Hypophysis-adrenal system in the fetal rat. Adrenals in fetuses subjected to cortisone, DCA, hypophysectomia and growth hormone.
Amer. J. Anat. 98 (1956), 205 - 229

G. Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Georg Dhom danke ich für die stete Förderung meiner Dissertation. Herrn Prof. Dr. med. Harro Seeliger bin ich zu besonderem Dank verpflichtet für die Überlassung des Themas und die ständige Bereitschaft, mich in meiner Arbeit zu unterstützen. Meinen Dank möchte ich auch Herrn Prof. Dr. Wilhelm Kosswig (Landwirtschaftliche Fakultät der Universität Bonn / Rhein) aussprechen für seine großen Bemühungen bei der biometrischen Auswertung meiner Befunde, die mit Unterstützung der Firma C. H. Boehringer in Ingelheim auf ihrer Großrechenanlage durchgeführt werden konnte.
Mein ganz besonderer Dank gilt aber auch Frau Brigitte Kubatsch für ihre Unterstützung bei der Versuchsplanung, den Berechnungen und der Herstellung der histologischen Präparate und Herrn Dr. von Seebach für seine Hilfsbereitschaft bei der Auswertung der Berechnungen.

H. Lebenslauf

Als Sohn des Bauingenieurs Edmund Weigand und seiner Ehefrau Ilse, geborene Trümpelmann, wurde ich am 29. Januar 1947 in München geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule (vom Herbst 1953 bis zum Herbst 1955 in München und von 1955 bis Ostern 1957 in Mannheim) setzte ich meine Ausbildung in Saarbrücken von 1957 bis 1966 an dem mathematisch-naturwissenschaftlichen Gymnasium, der Staatlichen Oberrealschule Saarbrücken, fort. Im Frühjahr 1966 bestand ich dort das Abitur. Vom Sommersemester 1966 bis zum Sommersemester 1970 studierte ich an der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes. Dort bestand ich 1967 das Vorphysikum und im Oktober 1968 das Physikum. Im Frühjahr 1969 begann ich im Pathologischen Institut bei Herrn Prof. Dhom mit meinen experimentellen Arbeiten für die Dissertation. Ab Sommersemester 1970 studierte ich an der Medizinischen Fakultät der Universität Köln. Dort bestand ich im November 1971 die Ärztliche Prüfung.